



Informazioni: dalle riviste

Diagnosi di infezione tubercolare latente

L'eradicazione dell'infezione tubercolare nei paesi industrializzati comporta l'identificazione e il trattamento dell'infezione latente. La prova della tubercolina, largamente adoperata a questo scopo, comporta difficoltà dovute a variabilità e soggettività nell'interpretazione del risultato e a una bassa specificità, perché il derivato proteico purificato (PDD: "purified protein derivative"), usato per questa prova, è una mescolanza di antigeni micobatterici che si trovano anche nei micobatteri non tubercolari e nei ceppi del bacillo di Calmette-Guérin (BCG). Per questi motivi sono state introdotte prove più specifiche che si avvalgono di una proteina antigenica precocemente prodotta di 6kD ("early secreted antigenic protein 6kD": ESAT-6) e della proteina 10 presente nel filtrato di coltura (CFP10: "culture filtrate protein-10"), che sono codificate nella regione di differenza 1 (RD1) del genoma di *Mycobacterium tuberculosis*; queste proteine non sono presenti in gran parte dei micobatteri non tubercolari (con l'eccezione di *M. kansasii*, *M. szulgai* e *M. marinum*) e nel BCG.

Nelle persone con tubercolosi latente le cellule T producono interferone gamma (IFN- γ) in risposta agli antigeni di *M. tuberculosis* e le prove basate sulla produzione di IFN- γ in risposta alle proteine codificate nella regione RD1 comportano la stimolazione di linfociti del sangue periferico con ESAT-6 e CFP-10 seguita dalla misura di IFN- γ con metodo immunoenzimatico o dalla identificazione delle cellule che lo producono con tecnica immunospot.

Recentemente Mori et al (Mori T, Sakatani M, Yamagishi T et al: **Specific detection of tuberculosis infection. An interferon- γ -based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 59**) hanno valutato la specificità e la sensibilità della prova con IFN- γ da sangue intero impiegando ESAT-6 e CFP-10 per l'identificazione dell'infezione da *M. tuberculosis* in soggetti in maggior parte vaccinati con BCG. Gli autori, riconoscendo che, al momento attuale, manca una prova ideale ("gold standard") per la valutazione della specificità e della sensibilità delle prove per la diagnosi d'infezione tubercolare, hanno determinato la sensibilità in pazienti trattati e con coltura positiva e la specificità in soggetti vaccinati con BCG non a rischio di esposizione al contagio.

È stato osservato che la specificità della prova è stata superiore al 98% in soggetti a basso rischio, vaccinati con BCG e pertanto ritenuti esenti da infezione tubercolare. Tale percentuale è nettamente superiore a quella rilevata usando la prova della tubercolina (33,4%, riferendosi al valore limite di 10 mm della lesione indurativa). Per quanto concerne la sensibilità, alla prova con ESAT-6 è stata del 65,3%, a quella con CFP-10 dell'81,4%. Combinando i risultati delle due prove la sensibilità è salita all'89%.

Gli autori ritengono che resti ancora da confermare se la più elevata sensibilità della prova con IFN- γ su sangue intero, rispetto a quella della prova della tubercolina, sia presente anche nei soggetti con infezione tubercolare latente; ciò potrebbe essere confermato dal fatto che i contatti con pazienti con tubercolosi in atto,

che possano avere una tubercolosi latente, presentano più elevate risposte di IFN- γ agli antigeni di *M. tuberculosis* rispetto a quelle dei pazienti con infezione attiva.

Un confronto tra la prova della tubercolina e le prove con i nuovi antigeni è stato recentemente eseguito da Brock et al per l'identificazione dell'infezione tubercolare in un gruppo di studenti venuti a contatto con soggetti infettati nel corso di un'epidemia di tubercolosi in una scuola danese (Brock I, Weldingh K, Lillebaek T et al: **Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 65**). La maggioranza di questi soggetti non era vaccinata con BCG: secondo gli autori ciò ha consentito un confronto diretto tra i due tipi di prova.

È stata rilevata una concordanza molto alta tra le due tecniche, con discordanza soltanto in 5 su 85 (6%) soggetti non vaccinati. Gli autori affermano che i risultati da loro ottenuti dimostrano che i due tipi di prova hanno analogo valore nell'identificazione di tubercolosi latente in soggetti giovani non vaccinati. Essi riconoscono tuttavia che i nuovi metodi, che si avvalgono di antigeni (ESAT-6 e CFP-10), che sono assenti da tutti i ceppi di BCG e da molti micobatteri non tubercolari, offrono una elevata accuratezza nell'identificazione dell'infezione da *M. tuberculosis*, mentre il risultato della prova della tubercolina può essere compromesso dalla vaccinazione con BCG o da un'infezione da micobatteri non tubercolari.

Nel commentare i risultati di questi studi Barnes (Barnes PF: **Diagnosis of latent tuberculosis infection. Turning glitter to gold. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 5**) pone le seguenti domande: 1) quali sono le caratteristiche del rendimento della tecnica immunoenzimatica e di quella immunospot? 2) gli antigeni adoperati debbono essere proteine ricombinanti o un pool di peptidi? 3) quanto tempo dopo l'esposizione al contagio si deve eseguire la prova?

Patogenesi del danno gastroduodenale da aspirina

L'aspirina e i farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) possono provocare erosioni e ulcere gastroduodenali con o senza sanguinamento. Questo effetto è attribuito in gran parte all'inibizione della ciclossigenasi (COX), che è l'enzima che sintetizza le prostaglandine (PG) e il trombossano A₂ (TXA₂); l'inibizione della COX provocata dall'aspirina si esplica sulle due isoforme dell'enzima, COX1 e COX2, ma prevalentemente sulla prima, come sarebbe dimostrato dal fatto che inibitori selettivi di COX2, come celecoxib e rofecoxib, sono meno lesivi della mucosa gastroduodenale, anche se le differenze tra questi composti e i FANS non selettivi, aspirina compresa, non sono risultate significative. Questi problemi hanno particolare rilevanza nella ricerca di FANS non gastroduodenalesivi che possano essere somministrati per lungo tempo a pazienti con artropatie. La questione è stata complicata dalle osservazioni che un inibitore selettivo della COX-1 (SC-560) non provoca significative lesioni della mucosa gastrica in animali da laboratorio e inoltre che topi con deficit ("knock-out") di COX-1 non vanno incontro a lesioni ga-

strointestinali più frequentemente degli animali di controllo. Inoltre è stato osservato nel ratto che l'aspirina somministrata per via intragastrica o per via parenterale esplica lo stesso effetto inibitore sulla sintesi delle PG, ma che soltanto se somministrata per via intragastrica dà luogo a evidente danno della mucosa gastrica. Ciò è stato attribuito al fatto che l'aspirina attenua notevolmente le caratteristiche idrofobiche della superficie acido-restente della mucosa gastrica e di quella duodenale.

Recentemente Darling et al hanno studiato il meccanismo del danno da aspirina in topi "knockout" per COX-1 e COX2 ponendo attenzione all'effetto sul metabolismo delle prostaglandine e sull'idrofobicità della superficie della mucosa gastrica (Darling L, Romero JJ, Dial EJ et al: **The effects of aspirin on gastric mucosal integrity, surface hydrophobicity and prostaglandin metabolism in cyclooxygenase knockout mice. Gastroenterology 2004; 127: 94**). Gli autori hanno inoltre valutato l'effetto gastroprotettivo di aspirina pre-associata con il fosfolipide fosfatidilcolina, rilevando che questa associazione è molto meno lesiva sulla mucosa gastrica.

Secondo gli autori questi risultati confermano quelli di precedenti studi che hanno indicato che la caratteristica idrofobica della fosfatidilcolina consente di mantenere l'integrità della mucosa gastrica.

Darling et al (*loc cit*) affermano che l'aspirina può provocare un danno della mucosa gastrica anche in topi con deficit di COX-1 o di COX2, inducendo a ritenere che l'inibizione dell'attività di COX-1 non è sufficiente a spiegare la patogenesi di queste lesioni.

Gli autori hanno osservato che in questi animali la stimolazione con aspirina acidificata (aspirina-HCl) dà luogo a significativo aumento di COX-2 e della concentrazione di PG; ciò dimostra che l'isoforma COX-2 ha un ruolo nel mantenimento dei livelli di PG e nei processi riparativi della mucosa, anche in presenza di FANS COX-1-selettivi, come è l'aspirina. Gli autori ritengono inoltre che le COX abbiano importanza nel meccanismo di guarigione del danno da FANS, piuttosto che nella sua patogenesi. Per contro l'alterazione dell'idrofobicità della mucosa gastrica determinata dall'azione topica dei FANS darebbe luogo alla lesione della mucosa; la somministrazione di fosfatidilcolina pre-associata all'aspirina preverrebbe questo meccanismo lesivo.

Nel commentare questi risultati Tarnawski e Caves (Tarnawski AS, Caves TC: **Aspirin in the XXI century: its major clinical impact, novel mechanisms of action and new safer formulations. Gastroenterology 2004; 127: 341**) ritengono che questi approcci alternativi intesi a ridurre la gastrolesività dell'aspirina, nei pazienti che l'assumono per lunghi periodi di tempo, si aggiungono al contemporaneo trattamento con inibitori della pompa protonica (PPI) e all'uso dei derivati dell'aspirina rilascianti ossido nitrico (NO-aspirina).

Inquinamento atmosferico e malattie cardiovascolari

Si ritiene concordemente che l'inquinamento atmosferico da materiale particolato determini un danneggiamento delle vie respiratorie associandosi ad aumento della morbilità e della mortalità per broncopneumopatie. Tuttavia molti studi clinico-epidemiologici hanno indicato che il materiale particolato rappresenta anche un importante fattore di rischio cardiovascolare. In una recente ricerca sulla mortalità correlata a inquinamento atmosferico in aree metropolitane degli Stati Uniti è stata eseguita un'analisi statistica diretta a valutare i

diversi aspetti delle associazioni con specifiche cause di morte per malattie cardiovascolari, anche al fine di comprendere i meccanismi patogenetici dell'effetto lesivo del materiale particolato sull'apparato circolatorio (Pope CA, Burnett RT, Thurston GD et al: **Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution. Epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. Circulation 2004; 109: 71**).

Nell'eseguire questa analisi statistica gli autori hanno determinato le cause specifiche di morte cardiovascolare ipotizzando tre meccanismi fisiopatologici generali. Secondo il primo meccanismo l'esposizione al materiale particolato dà luogo a progressione di una broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) preesistente e si associa ad aumentata mortalità per questa e altre broncopneumopatie. Il secondo meccanismo ipotizzato consiste nell'infiammazione, polmonare e sistemica, e nell'accelerata arteriosclerosi; infatti l'inalazione di materiale particolato può provocare una risposta infiammatoria polmonare di lieve grado che peraltro dà luogo alla liberazione di citochine potenzialmente dannose, ad alterazione dei processi di emocoagulazione, con conseguente aumentato rischio di eventi cardiovascolari acuti e accelerazione dei processi arteriosclerotici. Questo secondo meccanismo, secondo gli autori, spiegherebbe perché l'esposizione a materiale particolato si associa a malattie cardiovascolari e a diabete che, insieme, possono favorire la comparsa di cardiopatie ischemiche. Secondo il terzo meccanismo ipotizzato l'esposizione a materiale particolato determinerebbe alterazioni della funzione del sistema nervoso autonomo cardiovascolare che si ripercuotono sulla frequenza cardiaca, potendo essere responsabili anche di arresto cardiaco.

Pope et al (*loc cit*) hanno raccolto i dati ottenuti dallo studio di soggetti di età superiore a 30 anni, partecipanti al Cancer Prevention Study II (CPS-II), valutando gli effetti dell'esposizione a materiale particolato con diametro delle particelle <2,5µm (PM_{2.5}).

È stato osservato che circa il 45% dei decessi è stato attribuito a malattie cardiovascolari e soltanto l'8% a malattie respiratorie; circa il 25% delle morti per malattie cardiovascolari è stato causato da cardiopatie ischemiche; tuttavia sono state numerose le cause di morte dovute a disturbi del ritmo, insufficienza cardiaca e arresto cardiaco. Gli autori sottolineano di non avere rilevato un'associazione positiva statisticamente significativa con le cause di morte per malattie respiratorie e, in particolare, che le cause di morte per BPCO e complicanze sono risultate "negativamente associate" (sic!) con l'esposizione a materiale particolato.

Gli autori osservano che i risultati da loro ottenuti non concordano con quelli di precedenti ricerche che hanno dimostrato che l'esposizione a materiale particolato si associa prevalentemente a sitomatologia respiratoria ostruttiva, ma riconoscono che non consentono deduzioni conclusive a motivo di limitazioni dovute al fatto che i risultati sono stati ricavati dai certificati di morte. In particolare l'osservazione della associazione negativa con BPCO può essere influenzata, secondo gli autori, da vari fattori, come complicanze polmonari con esito in obitus per polmonite e complicanze cardiache di BPCO che possono escluderle dalle cause di mortalità. Inoltre gli autori sottolineano l'eventualità che l'esposizione al materiale particolato espliciti il suo effetto lesivo attraverso molteplici meccanismi patogenetici che possono essere variamente intrecciati fra loro, come l'effetto vasostrittore polmonare e generale, l'attivazione delle cellule endoteliali, l'aumento in circolo delle endoteline e l'aggravamento dell'ischemia miocardica.

Gli autori confermano che il fumo di tabacco si associa ad aumentato rischio di malattie cardiovascolari, specialmente cardiopatie ischemiche, disritmie, insufficienza cardiaca e arresto cardiaco e ciò anche dopo che l'abitudine al fumo è stata corretta. Tuttavia è stato rilevato che l'effetto dell'esposizione al materiale particolato sul rischio di cardiopatie ischemiche e diabete è stato simile sia nei fumatori che nei non fumatori, mentre, per quanto riguarda disritmie, insufficienza cardiaca e arresto cardiaco, l'aumento di rischio è stato maggiore nei fumatori rispetto ai non fumatori. Gli autori ritengono, a questo proposito, che i meccanismi con i quali il materiale particolato e il fumo di tabacco esplicano effetti lesivi siano molto simili, ma che il fumo di tabacco comporta un effettivo rischio di malattie polmonari, mentre ciò non è per l'inquinamento atmosferico, ove si eccettui, secondo le osservazioni degli autori, l'associazione dell'esposizione del materiale particolato con la mortalità per polmonite e insufficienza cardiaca anche nei non fumatori.

Infezione occulta da HBV e carcinoma epatocellulare

L'infezione occulta da virus B dell'epatite (HBV) è caratterizzata dalla presenza del DNA di HBV (HBV-DNA) nel siero o nel tessuto epatico di pazienti negativi per l'antigene di superficie di HBV (HBsAg), con o senza anticorpi circolanti verso HBsAg (HBsAb). Recenti studi condotti per mezzo di tecniche sensibili hanno confermato queste osservazioni e hanno inoltre dimostrato che l'infezione occulta da HBV è in significativa correlazione con la presenza di cirrosi in portatori cronici del virus C dell'epatite (HCV); inoltre è stata osservata la presenza di HBV-DNA nel tessuto epatico di pazienti con carcinoma epatocellulare (HCC) HBsAg-negativi.

Recentemente Pollicino et al (**Pollicino T, Squadrito G., Cerenzia G et al: Hepatitis B virus maintains its oncogenic properties in the case of occult HBV infection. Gastroenterology 2004; 126: 102**) hanno studiato la prevalenza e lo stato molecolare dell'infezione occulta da HBV in pazienti cirrotici HBsAg-negativi con HCC.

È stata ricercata la presenza di HBV-DNA nel tessuto epatico di 107 pazienti HBsAg-negativi con HCC e, per controllo, nel tessuto epatico non neoplastico di 72 soggetti; sono stati inoltre esaminati campioni di tessuto epatico di 192 pazienti con epatite cronica HBsAg-negativi. HBV-DNA è stato identificato in 68 dei 107 pazienti con HCC (63,5%) e in 63 dei 192 pazienti con epatite cronica (32%) ($P < 0,0001$; rapporto di rischio 3,6; intervallo di confidenza (CI) 2,2-5,9).

L'associazione tra infezione occulta da HBV e HCC è risultata indipendente dall'età, dal sesso e dalla contemporanea infezione da HCV.

Gli autori sottolineano che nei pazienti con HBV-DNA sono stati identificati sia il DNA virale integrato che i genomi di HBV e che la presenza di genomi di HBV liberi è risultata associata alla persistenza sia della trascrizione che della replica virale.

Gli autori ritengono che i loro risultati indichino che l'infezione occulta da HBV rappresenta un rischio di sviluppo di HCC, poiché può esplicare un ruolo oncogeno attraverso il mantenimento di un lieve processo necro-infiammatorio che può contribuire allo sviluppo della cirrosi e dell'HCC. È inoltre possibile, secondo gli autori, che l'infezione occulta da HBV espliciti un'azione oncogena diretta mediante l'integrazione del virus nel genoma dell'ospite e il mantenimento, anche se a basso livello, dell'attività trascrizionale, consentendo la sintesi di proteine con potenziale pro-oncogeno.

Gli autori concludono affermando che l'attività pro-oncogena di HBV-DNA presente nell'infezione occulta da HBV giustifica la ricerca di HBV-DNA nei pazienti HBsAg-negativi con epatite cronica progressiva o con cirrosi, al fine di identificare tempestivamente i pazienti ad alto rischio di HCC.

Nel commentare questi risultati Marrero e Lok (**Marrero JA, Lok ASF: Occult hepatitis B virus infection in patients with hepatocellular carcinoma: innocent bystander, cofactor or culprit? Gastroenterology 2004; 126: 347**) si domandano se, nei confronti dell'associazione tra infezione occulta da HBV e HCC, il virus sia un innocente spettatore o un cofattore oppure l'unico responsabile. Essi ritengono che l'evidente associazione etiologica tra infezione cronica da HBV e HCC renda poco verosimile il ruolo di innocente spettatore del virus, mentre appare probabile un ruolo di cofattore nello sviluppo del tumore. A questo proposito gli autori ricordano che molti studi hanno indicato che pazienti con co-infezione da HBV e HCV sono ad accresciuto rischio di HCC rispetto a quelli con infezione da un solo dei due virus e ritengono che questi virus possano interagire provocando un più grave processo infiammatorio e una più rapida progressione verso la cirrosi oppure determinando un effetto oncogeno additivo o sinergico.

Per quanto concerne il ruolo etiologico dell'infezione occulta da HBV, da sola, nello sviluppo di HCC gli autori ritengono che debbano essere prese in considerazione altre cause di danno epatico cronico, come epatosteatosi non alcolica, emocromatosi, deficit di alfa1-antitripsina ed epatopatie autoimmunitarie. Per quanto riguarda la negatività di HBsAg rilevata nei pazienti con infezione occulta da HBV e presenza di HBV-DNA, gli autori ricordano che è stata segnalata la clearance spontanea di HBsAg in soggetti con infezione cronica da HBV e nei quali è stato osservato lo sviluppo di HCC e che è possibile che una pregressa, transitoria infezione acuta da HBV, sierologicamente guarita, possa lasciare persistere bassi livelli di DNA virale fino per oltre 10 anni. È anche possibile, secondo gli autori, che alcuni pazienti siano infetti da varianti di HBV che non esprimono proteine virali, pur conservando un effetto oncogeno. Marrero e Lok (*loc cit*) concludono ritenendo necessari ulteriori studi per confermare la possibilità che un'infezione acuta da HBV possa, anche dopo decenni, dar luogo a un danno epatico di lieve grado e a un HCC; per il momento gli autori ritengono "premature" procedere alla ricerca di un'infezione occulta da HBV in tutti i soggetti HBsAg-negativi con HCC.